

# PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai Doktori Iskola

Szabályozásbiológia Program

***Az *Eisenia fetida* coelomasejtjei: struktúra, funkció, eredet***

***PhD értekezés tézisei***

**Somogyi Ildikó**

Témavezetők:

***Dr. (habil) Pollák Edit***

egyetemi docens

***Dr. (habil) Molnár László***

egyetemi docens



***Pécs, 2012***

# BEVEZETÉS

A gerinctelen állatokban a cölómafolyadék, a hemolimfa, illetve néhány törzsben (zsinórférgék és gyűrűsférgék) a vér több élettani folyamatban játszik fontos szerepet: tápanyagokat és bomlástermékeket, légzési gázokat és szabályozó anyagokat pl. hormonokat szállít. Ezek a folyadékterek meghatározott összetételűek, és az egyes törzsekre jellemző sejttípusokat tartalmaznak, amelyek a véralvadás, sebgyógyulás folyamatában, továbbá az immunválasz kialakításában vesznek részt. A testüregi sejteket funkcióik alapján a gerincesek vérsejtjeivel analóg struktúráknak tekinthetjük, így szerkezetük és működésük megismerése több élettani folyamat (véralvadás, sebgyógyulás és immunválasz) filogenezisének megismerését teszi lehetővé.

A kevésértéjű (Oligochaeta) gyűrűsférgék cölómasejtjeit alapvetően konvencionális fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján jellemezték és csoportosították, eleocitákat, granulocitákat és amöbocitákat különítettek el. Az egyes csoportokba tartozó sejtek morfológiai variabilitása alapján funkcionális szubpopulációk létezése is felvetődött, de azok kísérleti eredményekkel történő bizonyítására még nem került sor. Az amöbocita-jellegű sejtek minden esetben pszeudopódiumokat képeznek, fagocitózisra képesek, lizoszómában gazdag citoplazmával rendelkeznek. A granulociták különböző festődési tulajdonságú granulumokat, elektrondenz sejtalkotókat és vakuólumokat, az eleociták pedig a kloragogén sejtekre hasonlítanak, a citoplazmájukban glikogént, lipidcseppeket és a kloragoszómákra emlékeztető, különböző denzitású granulumokat tartalmaznak.

A cölómasejtek eredete még napjainkban is vitatott. Származhatnak a cölómaüreg falát képező somatopleurából és a splanchnopleurából is. A középbél periintestinalis szinuszaihoz kapcsolódó kloragogén szövet nagy, élénksárga színű sejtekből áll, a splanchnopleurából származik. A kloragogén sejtek között elszórtan kisméretű világos citoplazmájú és nagy sejtmagvú ún. hialoblasztok is előfordulnak, amelyek egyes cölómasejtek előalakjai lehetnek.

Az oligochaeták cölómasejtjei nélkülözhetetlenek a homeosztázis fenntartásához, így a véralvadáshoz, az immunválasz kialakításához és egyes kísérleti eredmények szerint a regenerációs folyamatokhoz. A kevésértéjű gyűrűsférgék immunrendszere már nem csak celluláris, hanem elsőként a törzsféjlődés során humorális immunválaszra is képes. A celluláris immunválaszban szerepet játszó cölómasejtek fagocitózisra, enkapszulációra képesek, szerepük van a gyulladásos folyamatokban, a szövetkilöködési reakciókban és a cölómafolyadék koagulációjában. A humorális immunválasz során a cölómasejtekben többek

között lizozim, agglutinin, fenoloxidázok, peroxidázok illetve antimikrobiális anyagok (pl. fetidin, lysenin, eiseniapore, cöloma citolitikus faktor) szintézise és szekréciója zajlik. A citotoxikus vegyületek a célsejtekben többek között az intracelluláris kalcium koncentrációt növelik, ami az exocitózis, az enzimműködés és a génexpresszió szabályozásában, továbbá a sejtprolifерáció, az apoptózis és a sejtnövekedés szabályozásában játszik szerepet, tehát a cölómasejtek ezeken a szignálmolekulákon keresztül végső soron számos kulcsfontosságú életfolyamatot képesek indukálni illetve befolyásolni.

A kevésértéjű gyűrűsférgeknek nagymértékű a regenerációs kapacitása, az eltávolított szerveiket, testszelvényeiket újraképzik az ún. regenerációs blasztémából. A regenerációs blasztéma kialakulásának folyamata és sejtjeinek eredete még napjainkban sem pontosan ismert. Az eddigi vizsgálatok eredményei alapján a blasztéma kialakulásában idegrendszeri hatásoknak és a cölómasejteknek van meghatározó szerepe. Míg az idegrendszer blasztéma-képzést és a differenciálódást mediáló hatását egyértelmű kísérleti eredmények bizonyítják, a cölómasejtek lehetséges szerepére vonatkozó hipotéziseket (bioaktív anyagok szállítása a sérülés helyére, új szövetek kialakítása transzdifferentiálódással) mindeddig meggyőzően nem bizonyították és nem is cáfolták.

Egyre több kísérleti adat bizonyítja, hogy mind a gerinces, mind a gerinctelen fajokban az ideg- és az immunrendszer sejtjei különböző kémiai anyagok (citokinek, neuropeptidek) kibocsátásával befolyásolja egymás működését. Számos neuropeptid rendelkezik endogén hírvivő funkcióval az immunrendszerben, és részt vesz az immunválasz egyes komponenseinek a szabályozásában. Egyes neuropeptidek, pl. oxitocin/antidiuretikus hormon, az angiotenzin korai megjelenésűek és konzervatívak az evolúció folyamatában. Ezek a peptidek korábban megjelentek, mint az idegrendszer, ami azt sugallja, hogy az elsők között jutottak szerephez az intercelluláris kommunikációs folyamatokban.

A gyűrűsférgek központi idegrendszerében (agydúc, hasdúclánc) nagy számban találunk neuroszekréciós sejteket, amelyek szteroid és peptid természetű szignálmolekulákat expresszálnak. Eddig több, mint 30 neuropeptidet izoláltak már gyűrűsférgekből, amelyek molekulaszervezetük és hatásuk alapján jól ismert peptid-családokba sorolhatók. Ezek között találunk csak a gerinctelenekben előfordulókat (pl. CAPA-peptidek) és a gerinctelenekben és gerincesekben általánosan előforduló, azaz konzervatív peptidcsaládba tartozó neuropeptideket is. Többek között az utóbbi években mutatták ki az oxitocin/antidiuretikus hormon családba tartozó annetocint és a vazóaktív intesztinális peptid/szekretin/glukagon családba tartozó hipofízis adenilát cikláz aktiváló peptidet (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide,

PACAP) a Lumbricidae család több fájának központi idegrendszerében. A PACAP számos más funkciója mellett a gerincesek immunfolyamataiban is részt vesz, gátolja a proinflammatorikus és serkenti az anti-inflammatorikus folyamatokat, vagyis lassítja a gyulladásos folyamatokat. Szerepet játszik az idegsejtek differenciálódásában és a sérült axonok regenerálódásában. Hasonló szerepet játszhat a PACAP gerinctelen szervezetekben, így az oligochaeta gyűrűsférgekben is, de erre vonatkozó vizsgálatokat még nem végeztek.

## CÉLKITŰZÉSEK

Az irodalmi adatok alapján megállapítható, hogy a kevésértéjű gyűrűsférgek cölómasejtjei számos élettani folyamatban részt vesznek, egyesekben nélkülözhetetlenek. Ennek ellenére (az eleociták kivételével) a cölómasejt típusok azonosítása napjainkban sem egyértelmű és az egyes sejtpopulációk funkciójára vonatkozó ismereteink is hiányosak.

A cölómasejtek citológiai és fiziológiai jellegzetességeinek pontosabb megismerése érdekében szükségesnek tartottuk

1. az egyes sejttípusok illetve azok esetleges szubpopulációinak elkülönítését konvencionális fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok, szénhidrát-, lipid-, enzim-; és immuncitokémiai vizsgálatok alapján;
2. a cölómasejtek szerkezet- és összetétel változásainak tanulmányozását normál körülmények között tartott, illetve fiziológiai stressznek (regeneráció, immunstimuláció) kitett kísérleti állatokban, ami funkciójuk alaposabb megismeréséhez járulhat hozzá;
3. a cölómasejt-típusok lehetséges eredetének, differenciálódásának tanulmányozását a fejlődési alakok azonosításával és részletes leírásával.

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### Kísérleti állatok

Vizsgálatainkhoz standard laboratóriumi körülmények között tenyésztett trágyagiliszta (*Eisenia fetida* Sav. Annelida, Oligochaeta) kifejlett egyedeit használtuk. A cölómasejteket a vizsgált egyedekből mechanikai ingerléssel vagy kémiai irritáció (izoláló puffer) alkalmazásával nyertük. A citotoxikus hatás vizsgálatához a cölómasejtekből ultrahang segítségével lizátumot (CCL) készítettünk. Western blot kísérleteinkben kontrollként BALB/c egerek különböző szerveit alkalmaztuk.

## **Hisztológiai és hisztokémiai vizsgálatok**

A testszelvényekből készített sorozatmetszeteket, illetve az izolált cölómasejtekéből készített keneteket May-Grünwald-Giemsa és/vagy hematoxin-eozin festéssel kontrasztosítottuk. Az összetett szénhidrátokat tartalmazó struktúrákat Perjód-sav-Schiff-reakcióval, a neutrális lipideket Szudánfekete festéssel, a savas kémhatású granulomákat in vivo Akridinoranzs festéssel mutattuk ki.

### **A cölómasejtek fagocitotikus aktivitásának vizsgálata**

A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz 1 µl ringerben szuszpendált, formalinnal fixált birka vörösvértesteket injektáltunk a kísérleti állatok testüregébe, majd a kísérletek 1., 3. és 5. napján rögzített szelvények hematoxin-eozin festett metszeteiben vizsgáltuk a vörösvértestek szöveti és celluláris lokalizációját.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok során ezüst-nanopartikulumok (AgNP) fagocitózist és celluláris eloszlást tanulmányoztuk konvencionális módszerek és röntgensugaras mikroanalízis alkalmazásával.

### **Konvencionális elektronmikroszkópos és enzim-citokémiai vizsgálatok**

Intakt és regenerálódó egyedek cölómasejtjeit 1%-os paraformaldehid és 2,5%-os glutáraldehid keverékében fixáltuk, OsO<sub>4</sub>-dal utófixáltuk.

A savanyú foszfátáz (AcP) lokalizációjának meghatározásához a regenerálódott testvégeket puffertelt glutár-aldehidben fixáltuk, majd a mintákból kriosztát metszeteket készítettünk, amelyekben Gömöri-féle inkubáló médiummal mutattuk ki az AcP aktivitást.

A CCL citotoxikus hatását 4%-os paraformaldehid és 0,3%-os glutáraldehid keverékben fixál Sp2 sejteken tanulmányoztuk.

A rögzített mintákat epoxi gyantába ágyztuk, azokból ultravékony metszeteket készítettünk, uranil-acetáttal és ólom-citráttal kontrasztosítottuk, majd transzmissziós elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

### **PACAP izoformák és a specifikus PACAP-receptorok (PAC1-receptorok) immunhisztológiai és immuncitokémiai kimutatása**

A PACAP27 és PACAP38 szöveti lokalizációjának meghatározásához az ép és a regenerálódott testszelvényeket 4%-os paraformaldehidben rögzítettük, majd pre-embedding immunfestést hajtottunk végre. A mintákban avidin-biotin-peroxidáz komplex (ExtrAvidin

kit) és 3,3'-diaminobenzidin (DAB) oldat segítségével vizualizáltuk az immunreaktív struktúrákat.

A PAC1-receptorok kimutatásához a regenerálódott testvégeket módosított Karnovsky oldattal (2% paraformaldehid és 2,5% glutáraldehid) fixáltuk majd epoxi gyantába ágyasztuk. Az ultravékony metszetekben a deozmifikálás és a gyanta eltávolítása után a PAC1-receptor immunreaktív struktúrákat immunarany jelöléssel mutattuk ki.

### **A PACAP izoformák koncentrációjának meghatározása radioimmunoassay (RIA) módszerrel**

A vizsgálatra szánt mintákat homogenizáltuk, centrifugáltuk, majd a PACAP mennyiségi meghatározásához a felülúszókat használtuk. Foszfátpufferbe kihígított anti-PACAP27 illetve 38 antiszérumot, RIA tracert (radioaktív jód izotóppal jelölt PACAP fragmens) és szintetikus PACAP27/38 ismert koncentrációjú hígítását vagy ugyanennyi mennyiségű ismeretlen mintát mértünk. Inkubáció után az antitesthez kötött komplexeket elválasztottuk a nem kötődő antitestektől és a precipitátum radioaktivitását gamma-számlálóval mértük.

### **Western blot**

Az izolált cölómasejteket, illetve az egérből származó kontroll mintákat homogenizáltuk, centrifugáltuk. A felülúszókat SDS-PAGE alkalmazásával futtattuk, majd nitrocellulózra blottoltuk. Ezután a mintákat anti-PAC1-R-t tartalmazó primer szérumban, majd tormaperoxidázhoz konjugált szekunder antitesttel inkubáltuk, majd kemilumineszcenciás detektálást végeztünk.

### **Áramlási citometria**

A cölómasejtek savanyú foszfátáz (AcP) aktivitásának kimutatásához az AcP immuncitokémiai reakció után az izolált sejteket paraformaldehiddel rögzítettük, majd gilisztá-ringeres mosás után citométerrel vizsgáltuk.

A CCL citotoxikus hatásának vizsgálatakor az Sp2 sejteket feltöltöttük Fluo3 AM indikátorral, és egy órás inkubálás után a sejtek a  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációját áramlási citométerrel tanulmányoztuk.

## EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Konvencionális fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal, továbbá szénhidrát-, lipid- és enzim-hisztokémiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy az *E. fetida* cölómasejtjei öt sejtípusba (eleociták, amöbociták, granulociták, bazofil citoplazmájú sejtek, valamint lebenyezett sejtmagvú cölómasejtek) sorolhatók. Míg az eleocitákat, amöbocitákat és a granulocitákat több lumbricida fajban azonosították, a bazofil citoplazmájú és lebenyezett sejtmagvú cölómasejteket elsőként azonosítottuk. Részletes citológiai és citokémiai jellegzetességeik alapján leírtuk az egyes sejtípusok variációit is, amelyek lehetséges szubpopulációkként a sejtípusok különböző fejlődési és funkcionális állapotai lehetnek.

Az **eleociták** méretük, jellegzetes sejtmagszerkezetük és citoplazma szerkezetük alapján jól azonosíthatók. A kloragoszómákra emlékeztető granulumaik száma és denzitása, továbbá a citoplazma glikogén és lipid tartalma azonban széles határértékek között változhat. Fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazoltuk, hogy az eleociták a kloragogén sejtek aszimmetrikus osztódásával alakulnak ki. Ezzel magyarázható a fiatal eleociták és a kloragociták szerkezetének nagymértékű hasonlósága. A sejtek életsiklusa során granulumaikat, tartalék tápanyagaikat a környezetükbe üríthetik, ennek megfelelően változhat citoplazmájuk szerkezete. Ultrastrukturális vizsgálataink során egy eddig még nem ismert jelenséget is megfigyeltünk, amellyel magyarázható a cölómában gyakran nagy számban előforduló sejtöredékek eredete. A kloragociták apikális részén gyakran denz granulumok (magas kalcium tartalmú kloragoszómák) és lipid cseppek halmozódnak fel, majd az apikális rész az intracelluláris membránok (főleg az endoplazmás retikulum ciszternái) mentén lefűződik a sejt bazális részéről. A folyamat hasonló a vérlemezkék képződéséhez. A lefűződött sejtöredékeket amöbociták fagocitálják és megemésztik, így anyagaik felszabadításával a cölóma összetételének megváltozásához és az ott zajló folyamatok mediálásához járulhatnak hozzá. Emiatt feltételezhetjük, hogy a kloragociták közvetett módon befolyásolják a cölómasejtek működését.

A fagocitózist végző **amöbociták** fejlettségi szintjére pseudopódiumaik méretéből és számából, valamint a fagocitotikus aktivitás mértékéből következtettünk. Fagocitáló aktivitásukat in vivo a testüregbe injektált birka vörösvértestek alkalmazásával, in vitro pedig ezüst nanopartikulumok alkalmazásával mutattuk ki. Eredményeink szerint a granulociták fagocitotikus aktivitása mind in vivo mind in vitro stimulálható. Kimutattuk, hogy az amöbociták nagyobb számban fordulnak elő a regenerálódó egyedekben és savanyú foszfatáz

aktivitásuk is nő. A magas savanyú foszfatáz aktivitás főként olyan fagocitáló sejtekre jellemző, amelyek lizoszómális rendszere aktiválódott, a fagocitált struktúrákat (mikroorganizmusok, sejt- és szövettörmelék) emésztí. Jelentős mértékű extracelluláris savanyú foszfatáz aktivitást mutattunk ki az amöbociták közelében. Az extracelluláris lizoszómális enzim a degenerálódó sértett szöveti struktúrák lebontását segítheti elő. Mivel az amöbociták a regenerálódó állatokban főleg a sértett testszelvényekben koncentráálódtak és bennük nagy számban találtunk bekebelezett sejt és szövettörmeléket, feltételezhetjük, hogy ezek a sejtek a degenerálódó szöveti struktúrák eltávolításával biztosítják a regenerációban szerepet játszó neoblasztok megtapadását az ép struktúrákon.

Konvencionális festési eljárásokkal azobnosítottuk a **bazofil és eozinofil granulocitákat**, amelyek granulumai különböző összetételűeknek bizonyultak. A granulumok mérete, denzitása rendkívül variált. Összetételüket nem ismerjük még, egy részük erős PAS-pozitivitása összetett szénhidrátok előfordulására utal. A granulumok gyakran megfigyelt exocitózisa arra utal, hogy az azokban lévő bioaktív anyagok felszabadításával akár a cölómasejtek, akár szöveti sejtek aktivitását befolyásolhatják. A jellegzetes granulumokon kívül mindkét sejtípus tartalmazott kisebb számban lizoszómákat.

A cölómasejtekből készült fénymikroszkópos kenetekben kis mennyiségben **bazofil sejteket** találtunk, amelyek méretük és struktúrájuk alapján két csoportba sorolhatók. A kisebb méretűeket citológiai jellegzetességeik (átmérő, sejtmag mérete és szerkezete, mag-citoplasma arány) az oligochaeta gyűrűsférgek őssejtjeivel, az ún. **neoblasztokként** azonosítottuk. Elsőként mutattuk ki, hogy a neoblasztok nagy számban fordulnak elő a cölómában és a regenerálódó állatokban a sértett testszelvényekben, illetve a regenerációs blasztémában halmozódnak fel. Immuncitokémiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy és gyakran mutatnak PAC1-receptor immunreaktív struktúráik vannak, ami alapján feltételezhetjük, hogy működésüket a PACAP-szerű neuropeptidek befolyásolják.

A nagyobb méretű bazofil sejtípus funkciójának feltárásához további vizsgálatok szükségesek.

Elsőként azonosítottuk az intakt egyedek cölómasejtjei között a **lebenyezett magvú sejteket** is, amelyeknek száma regenerálódó egyedekben szintén megnőtt. Rendkívül nagyméretű pszeudopódiumokat képző csillag alakú sejtek. Mivel a sérült szelvényekben fordulnak elő nagy számban és intenzíven fagocitálnak, feltehetően a sérüléssel keletkező szöveti törmelék eliminálásában, illetve a sebet előzőnlő mikroorganizmusok elpusztításában vesznek részt.



Immunhisztokémiai és RIA vizsgálatokkal bizonyítottuk, hogy a cölómasejtek egy része PACAP27 és PACAP38 (PACAP-immunreaktív) vegyületeket tartalmaz. Kimutattuk, hogy a szöveti sérülés a cölómasejtek PACAP-koncentrációjának növekedését stimulálja és a peptidek koncentrációja magasabb az ép szelvényekben, mint a regenerálódó szelvényben. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy a regeneráció során a cölómasejtek PACAP-ot (feltehetően más bioaktív anyagokat is) a sérülés helyére szállítanak majd azokat ott leadják, így más sejtek (pl. a PAC1-receptorokat expresszáló neoblasztok, egyéb cölómasejtek) működésének befolyásolásával a regeneráció folyamatának szabályozásához hozzájárulnak. A cölómasejtek PACAP-tartalmának eredetét még nem tudtuk egyértelműen megállapítani, de előzetes kísérleti eredményeink arra utalnak, hogy a cölómasejtek a vérből vehetik fel a peptidet, tehát azt nem szintetizálják, csak szállítják.

Kísérleti eredményeink és a korábbi irodalmi adatoknak az összevetése alapján megállapíthatjuk, hogy az *E. fetida* és feltehetően a többi oligochaeta gyűrűsféreg cölómájában többféle cölómasejt típus fordul elő és az egyes sejtípusokhoz különböző aktivitású szubpopulációk tartoznak. A cölómaüreg sejtjei folyamatos átalakulásban lehetnek, az átmeneti formák származási kapcsolatait sejtfelszíni markerek vizsgálatával lehet bizonyítani.

Kimutattuk, hogy a **regenerációs blasztéma** a korábbi leírásokkal szemben nem csak amöbocitákat és eleocitákat tartalmaz, hanem nagy számban fordulnak elő benne granulociták is, amelyek bioaktív anyagok szállításában vehetnek részt. Ellentétben azzal a korábbi feltételezéssel, miszerint a regeneráció során eleociták transzdifferentiálódnak különböző szöveti sejtekké, megállapítottuk, hogy a regenerációs blasztémában nagy számban előforduló totipotens neoblasztokból alakulnak ki az új szöveti struktúrák.

In vivo és in vitro kísérletekkel bizonyítottuk az amöbociták celluláris immunválaszban játszott szerepét. Modell-kísérletekben Sp2-sejtek alkalmazásával kimutattuk, hogy a cölómasejtek egy része citotoxikus anyagokat termel és a humorális immunválaszban is szerepet játszik. A citotoxikus vegyületek az intracelluláris kalcium-ion koncentráció növelésével idézik elő az idegen sejtek pusztulását.

# ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során a trágyagiliszta (*E. fetida*) cölómasejtjeinek tanulmányozásával foglalkoztunk mikroszkópos és molekuláris biológiai módszerekkel. Vizsgálataink során konvencionális fény- és elektronmikroszkópos technikákkal azonosítottuk az eleocita, az amöbocita és a granulocita sejttypusokat. Ezen felül a csoportokban főként ultrastruktúra alapján altípusokat, lehetséges fejlődési stádiumokat írtunk le.

Bizonyítékot szolgáltatunk arra vonatkozóan, hogy a cölómasejtek egy része a trofikus valamint raktározó funkciót ellátó, hemoglobintermelő kloragogén szövet sejtjeiből származhat. Elektronmikroszkópos felvételeinken azt tapasztaltuk, hogy a perifériás kloragogén szövet sejtjeiről diszkrét citoplazma szegmensek fűződnek le, valamint a kloragogén sejtek osztódására is találtunk példát.

A cölómasejtek funkciói közül részletesen jellemeztük a regenerációban betöltött szerepüket. Ultrastruktúrális vizsgálataink alapján elmondhatjuk, hogy az eleociták és a granulociták valószínűleg bioaktív anyagok szállítását végzik a regenerálódó testrészbe. Igazoltuk az amöbociták fagocitotikus aktivitását és indukálható savanyú-foszfátáz termelését. Ez alapján elmondhatjuk, hogy az amöbociták felismerik, fagocitálják és eliminálják a sérült szöveti törmeléket és a sejtmaradványokat. Fény- elektronmikroszkópos immunhiszto- és immuncitokémia, radioimmunoassay és Western blot analízis alkalmazásával kimutattuk, hogy a korábban már gerincesekben bizonyított neuroprotektív hatású peptid, a hipofízis adenilát cikláz aktiváló peptid PACAP-szerű peptid és annak specifikus (PAC1-szerű) receptora jelen van a regenerálódó testvég cölómasejtjeiben. Eredményeink azt mutatják, hogy a giliszta PACAP-szerű peptidjeinek koncentrációja megnő a regenerálódó egyedek cölómasejtjeiben, és eloszlásuk kaudális irányban csökken. Ez arra utalhat, hogy a sejtek felveszik és a sebzés helyére szállítják a vizsgált peptideket. Regenerációs kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy korábbi adatokkal ellentétben nem a szabadon úszó cölómasejtek (eleociták, amöbociták és granulociták) transzformációjával és differenciálódásával alakulnak ki a regenerált testrész szövetei, hanem a cölómaüregben sérülés hatására felszaporodó mezodermális eredetű totipotens őssejtek, a neoblasztok alakítják ki azokat. Ezen kívül a sejtekből készült cölómasejt-lizátummal daganatos sejtvonala sejtjeit kezeltük. Áramlási citometriás és ultrastruktúrális vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a cölómasejtek lizátuma citotoxikus hatással rendelkezik, mely bizonyíték lehet a humorális immunválasz kialakításában való aktív részvételre.

# PUBLIKÁCIÓK

## A disszertáció alapjául szolgáló tanulmányok:

1. **Somogyi I**, Boros A, Engelmann P, Varhalmi E, Nemeth J, Lubics A, Tamas A, Kiss P, Reglodi D, Pollak E, Molnar L (2009) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-like compounds could modulate the activity of coelomocytes in the earthworm. **Ann New York Acad Sci** 1163:521-523. **IF: 2,303**
2. Varhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Nemeth J, Reglodi D, Lubics A, Kiss P, Tamas A, Pollak E, Molnar L (2008) Expression of PACAP- like compounds during the caudal regeneration of the earthworm *Eisenia fetida*. **J Mol Neurosci** 36(1-3):166–174. **IF: 2,061**
3. Hayashi Y, Engelmann P, Foldbjerg R, Szabó M, **Somogyi I**, Pollák E, Molnár L, Autrup H, Sutherland DS, Scott-Fordsmand J, Heckmann LH (2012) Earthworms and humans in vitro: characterizing evolutionarily conserved stress and immune responses to silver nanoparticles. **Environ Sci Technol** 46(7):4166-4173. **IF: 5,228\***
4. Molnar L, Engelmann P, Somogyi I, Mácsik LL, Pollak E (2012) Cold-stress induced formation of calcium and phosphorous rich chloragocyte granules (chloragosomes) in the earthworm *Eisenia fetida*. **Comp Biochem Physiol Mol Integr Physiol** 163(2):199-209. **IF: 2,235\***

(\*: legutolsó 2011-es IF alapján)

## A disszertáció alapjául szolgáló konferencia absztraktok, poszterek és előadások:

1. Engelmann P, Mácsik LL, **Somogyi I**, Oppert B, Pollák E, Molnár L, Németh P (2011) Coelomasejt lizátum membránkárosító hatásának vizsgálata tumor sejtvonalakon. 41. Membrántranszport Konferencia, Sümeg. Poszter absztrakt.
2. Mácsik LL, **Somogyi I**, Bovári J, Oppert B, Pollák E, Molnár L, Németh P, Engelmann P (2010) Coelomasejt lizátum citotoxikus hatásainak vizsgálata HeLa, Jurkat és Sp2 sejtvonalakon. 40. Membrántranszport Konferencia, Sümeg. Poszter absztrakt.
3. Mácsik LL, **Somogyi I**, Bovári J, Oppert B, Pollák E, Molnár L, Németh P, Engelmann P (2010) Coelomasejtek citotoxikus hatásmechanizmusának térképezése tumorsejtvonalakon. Magyar Immunológiai Társaság 39. Kongresszusa, Szeged. Poszter absztrakt.
4. **Somogyi I** (2009) A hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP)-szerű vegyületek szerepe a giliszta coelomasejtek működésének modulálásában. Biológus Doktoranduszok Konferenciája, Pécs. Előadás.

5. **Somogyi I**, Várhalmi E, Engelmann P, Oppen B, Boros Á, Németh J, Lubics A, Reglődi D, Pollák E, Molnár L (2009) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (pacap) modulates the activity of coelomocytes during the regeneration of the ventral nerve cord ganglia in the earthworms. 8th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Germany. Poszter absztrakt.
6. **Somogyi I**, Engelmann P, Boros Á, Németh J, Lubics A, Reglődi D, Pollák, E, Molnár L (2008) PACAP-like compound modulate the activity of earthworm coelomocytes. 24th Conference of European Comparative Endocrinologist, Genova, Italy. Poszter absztrakt.
7. Várhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Pollák E, Lammel K, Lubics A, Reglődi D, Németh J, Molnár L (2008) Possible role of PACAP in regeneration of the ventral nerve cord ganglia of the earthworm: a biochemical and immunohistochemical approach. International IBRO Workshop, Debrecen, Hungary. Poszter absztrakt.
8. Várhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Pollák E, Lammel K, Lubics A, Reglődi D, Németh J, Molnár L (2008) Possible role of PACAP in regeneration of the ventral nerve cord ganglia of the earthworm: a biochemical and immunohistochemical approach. **Ideggyógyászati szemle** 61(S1):66-67.
9. **Somogyi I**, Várhalmi E, Pollák E, Reglődi D, Németh J, Shioda S, Matsuda K, Lubics A, Molnár L (2007) PACAP and PAC1 receptor immunoreactivity in some coelomocytes of the regenerating *Eisenia fetida*. 8th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Manchester, Vermont, USA. Poszter absztrakt.
10. **Somogyi I**, Várhalmi E, Pollák E, Reglődi D, Shioda S, Lubics A, Molnár L (2007) PACAP and PAC1 receptor immunoreactivity in some coelomocytes of the regenerating *Eisenia fetida*. **J Mol Neurosci** 33(3):332-332. **IF: 1,735**
11. Várhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Pollák E, Lubics A, Reglődi D, Németh J, Shioda S, Molnár L (2007) Does PACAP influence invertebrate nervous system regeneration? 8th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Manchester, Vermont, USA. Poszter absztrakt.
12. Várhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Pollák E, Lubics A, Reglődi D, Shioda S, Molnár L (2007) Does PACAP influence invertebrate nervous system regeneration? **J Mol Neurosci** 33(3):333-333. **IF: 1,735**

### **Egyéb publikációk:**

1. Boros A, **Somogyi I**, Engelmann P, Lubics A, Reglodi D, Pollak E, Molnar L (2010) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type 1 (PAC1) receptor is expressed during embryonic development of the earthworm. **Cell Tissue Res** 339(3):649-653. **IF: 2,804**

### **Egyéb konferencia absztraktok, poszterek és előadások:**

1. Boros Á, Gunszt D, **Somogyi I**, Pollák E, Molnár L (2011) Characterisation of CAPAergic neurons in the earthworm brain: from immunocytochemistry to gene identification. HSM Annual Meeting, Siófok.
2. Molnár L, Horváth B, Gunszt D, **Somogyi I**, Engelmann P, Steib A, Németh J, Lubics A, Reglődi D, Pollák E (2011) PACAP-szerű molekulák gyűrűsférgekben és szerepük az agyregenerációban. A Magyar Farmakológiai Anatómus Mikrocirkulációs Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája, Pécs.
3. Molnár L, Horváth B, Gunszt D, **Somogyi I**, Engelmann P, Steib A, Németh J, Lubics A, Reglődi D, Pollák E (2011) PACAP-like molecules in earthworms and their influence on the brain regeneration. **Acta Physiol.** 202:81-81.
4. Gunszt D, **Somogyi I**, Joó T, Vecsei MJ, Debertin G, Pollák E, Molnár L (2010) A hasdúc-lánc normál és patológiás regenerációja *Eisenia fetidában*. Normal and pathological regeneration of the ventral nerve cord ganglia in the earthworm *Eisenia fetida*. HSM Annual Meeting, Siófok.
5. Molnár L, Horváth B, Mátyás M, Oravetz K, Gunszt D, **Somogyi I**, Boros Á, Pollák E (2010) A kiirtott agy regenerációja kontroll és mérgezett gyűrűsférgekben. Regeneration of the extirpated brain in control and toxicated earthworm. HSM Annual Meeting, Siófok.
6. Lubics A, Horváth B, **Somogyi I**, Gunszt D, Boros A, Pollák E, Németh J, Reglődi D, Molnár L (2010) Brain extirpation stimulate PACAP expression in the central nervous system of the earthworm. 25th Conference of European Comparative Endocrinologists, Pécs, Hungary. Poszter absztrakt.
7. Horváth B, **Somogyi I**, Gunszt D, Boros A, Pollák E, Németh J, Reglődi D, Lubics A, Molnár L (2009) Brain extirpation stimulates PACAP expression in the central nervous system of the earthworm. 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Kagoshima, Japan. Poszter absztrakt.

8. Molnár L, Gunszt D, Boros Á, Pollák E, **Somogyi I**, Horváth B, Németh J, Reglődi D, Lubics A. (2009) The role of the circulatory system in the transportation of PACAP-like compounds in earthworms. 9th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, Kagoshima, Japan. Poszter absztrakt.
9. Molnár L, Gunszt D, Boros Á, Pollák E, **Somogyi I**, Horváth B, Németh J, Reglődi D, Lubics A (2010) The role of the circulatory system in the transportation of PACAP-like compounds in earthworms. **J Mol Neurosci** 42(3):308-309. **IF: 2,922**
10. Boros Á, Engelmann P, **Somogyi I**, Lubics A, Reglődi D, Pollak E, Molnar L (2009): Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) selective receptor (PAC1R) expression during the earthworm embryogenesis. 8th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Germany. Poszter absztrakt.
11. Lubics A, Boros Á, Engelmann P, **Somogyi I**, Herbert Zs, Reglődi D, Pollák E, Molnár L (2008) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) has an influence of the development and differentiation of embryonic tissue of the earthworm *Eisenia fetida*. 24th Conference of European Comparative Endocrinologist, Genova, Italy. Poszter absztrakt.
12. Boros Á, Pollák E, Reglődi D, Várhalmi E, **Somogyi I**, Kiszler G, Lubics A, Németh J, Molnár, L (2007) PACAP isoforms and Pac1 receptors are expressed in the regenerating ventral nerve cord ganglia of the earthworm *Eisenia fetida*. 11th Symposium on Invertebrate Neurobiology, Tihany, Hungary. Poszter absztrakt.

#### **Tudománymetriai adatok**

A disszertáció alapjául szolgáló publikációk impakt faktora: 11,827

Az összes publikáció impakt faktora: 14,631

Független idézetek száma: 5